

S100A11 promotes tumorigenesis of non-small cell lung cancer through cytoskeleton integrity maintenance and YAP activation

著者	OMER MOHAMMED TAREG
号	89
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3951号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00129352

氏 名	タレグオマルモハメド Tareg Omer Mohammed
学 位 の 種 類	博士 (Medical Sciences)
学位授与年月日	2019 年 9 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	S100A11 promotes tumorigenesis of non-small cell lung cancer through cytoskeleton integrity maintenance and YAP activation (S100A11 は F-アクチン細胞骨格の恒常性維持と YAP 活性化によって非小細胞 肺がんの発がん性を促進する)
論文審査委員	主査 教授 五十嵐 和彦 教授 田中 伸幸 教授 海野 倫明 教授 本橋 ほづみ

論 文 内 容 要 旨

Background: Advancements in medical technology and the accompanying growth in our knowledge of cancer biology has led to remarkable progress against cancer. Nevertheless; despite such significant achievement, cancer still takes many lives. Non-small cell lung cancer (NSCLC), for example, is a leading cause of death from cancer. Despite the development of EGFR kinase inhibitors, the disease burden is still significant and new targets are in high demand. For my thesis work I focused on members of the S100 family which show aberrant expression in various human cancers. S100 proteins are Ca^{2+} -binding proteins and some members have shown therapeutic application. Many members of the family are dysregulated in cancer and facilitate disease progression; however, the underlying mechanisms remain incompletely understood.

Methods and Results: I found S100A11 to be overexpressed in NSCLC cells and through loss of function approach identified its importance for the tumorigenesis of NSCLC. S100A11 knockdown or knockout abrogated the proliferation, tumorigenicity, migration and invasion of

H1975 cells. Moreover, I discovered that silencing of S100A11 impaired F-actin organization, disrupted focal adhesion, and delayed cell spreading. Accordingly, I examined regulatory pathways behind its implication and found it to be important for the activation of the Yes associated protein (YAP) oncogene whose regulation is dependent on the actin cytoskeleton and cellular mechanical tension. Supportively, I found that S100A11- depletion conferred decreased nuclear localization of YAP and induced increased YAP phosphorylation suggesting that S100A11 depletion inactivates YAP. Further, I found that loss of S100A11 decreased YAP activity and thereby the expression of its downstream target genes (CTGF, CYR61, and ANKRD1). Finally, I validated the importance of S100A11 and YAP to the biology of H1975 cells by reintroducing S100A11 to S100A11 knockout cells and suppressing YAP activity from wild type H1975 cells using a YAP-dominant-negative construct (YAP-5SA/S94A). Re-introduction of S100A11 into the knockout cells restored aggressive properties of H1975 cells while suppression of YAP activity resulted in complete abolition of tumor growth in vivo. These results underscore the importance of YAP to the biology of H1975 cells and explain why S100A11- actin mediated suppression of its activity attenuated the biological functions of these aggressive lung adenocarcinoma cells.

Conclusion and prospects: In this study, I report a novel pathway whereby S100A11 drives the tumorigenesis of NSCLC cells through sustenance of F-actin integrity and regulation of YAP activity. YAP is a well-known oncogene, and both YAP and S100A11 have been reported to be of therapeutic significance in NSCLC. It is of relevance to investigate how combined targeting of S100A11 and YAP may be exploited to further explore the therapeutic potential of these molecules in NSCLC with emphasis on achieving clinical value.

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 S100A11 promotes tumorigenesis of non-small cell lung cancer through cytoskeleton integrity maintenance and YAP activation (S100A11はF-アクチン細胞骨格の恒常性維持とYAP活性化によって非小細胞肺がんの発がん性を促進する)

所属専攻・分野名 医科学専攻・(連携) がん医科学講座 分野

学籍番号 B5MD5142 氏名 タレグ モハンマド

非小細胞肺癌は我が国に多い癌であり、頻発するEGFR遺伝子突然変異陽性例にはチロシンキナーゼ阻害薬が奏効する。しかしながら、初期治療に反応した症例のほとんどが高頻度に再発を来すことから、新たな治療標的の開発が期待されている。中でも、非小細胞肺癌の増殖や遊走・浸潤に関わる分子群は、病態制御の観点から重要性が高いと考えられる。カルシウム結合ドメインを持つS100分子群に属するS100A11は、これまで細胞遊走や細胞周期など、癌の悪性形質との関連が報告されてきたが、非小細胞肺癌の悪性化における役割については不明の点が多かった。すなわち、肺癌におけるS100A11の発現および発現調節、S100A11の細胞生物学的機能、腫瘍形成における役割などの多くは不明であった。本研究においてタレグ・モハンマド氏は、非小細胞肺癌におけるS100A11に注目し、同分子の遺伝子発現と非小細胞肺癌細胞における役割に関する検討を行った。得られた知見は以下の通りである。

1. 非小細胞肺癌株を対象としてS100A11mRNAの発現量をqPCR法にて解析した。その結果、1) 非小細胞肺癌細胞株に高発現しており、EGF受容体(EGFR)遺伝子変異株において発現が多いこと、2) 同遺伝子mRNA発現がEGFR刺激によって亢進すること、を明らかにした。S100A11遺伝子がEGFRシグナルによって転写され発現亢進につながることが示唆された。
2. EGFR遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌株H1975を用いてS100A11のノックダウンおよびノックアウトをすることで、同細胞の細胞展開(スプレッディング)、細胞遊走および細胞浸潤が低下したことから、S100A11は非小細胞肺癌において細胞の動的制御を行っていることが示された。
3. S100A11をノックダウンするとF-actinで染色される細胞骨格の異常が出現した。特に、Actin arcやストレスファイバーの形成不全が認められた。さらに、細胞形態に関連するGTPaseであるRac1の活性化が抑制され、Focal Adhesionの形成不全も認められたことから、S100A11を欠損させると肺癌細胞の形態のみならず細胞運動性に障害が生ずることが明らかとなった。
4. S100A11をノックダウンするとin vitroにおいて細胞増殖が抑制され、ヌードマウスに異種移植した実験系においては腫瘍増殖が抑制されたことから、S100A11は増殖の維持に寄与することが示された。
5. S100A11をノックアウトするとYAPの核移行が抑制され、YAPの標的遺伝子の転写が低下したことから、S100A11はYAPの活性化に重要であることが示された。さらに、YAPの不活性体を過剰発現させるとH1975の示す造腫瘍性がほぼ完全に消失した。したがって、S100A11は細胞内骨格の維持に働き、さらにYAPを介して造腫瘍性を発揮する可能性が示唆された。
6. 肺癌症例の病理組織を解析したところ、S100A11の発現が高い症例があり、さらにEGFRの多重変異を示す症例においてYAPの核移行が認められた。データベースを用いた解析により、S100A11mRNAを高発現する症例は有意に予後不良であることが示された。

以上、本研究によって、S100A11がEGFR変異陽性肺癌において高発現しており、細胞遊走と細胞骨格制御、さらには細胞増殖と造腫瘍性における役割を担うこと、YAPの活性化に重要であり肺癌の悪性化に貢献することが理解された。これらの知見は、EGFR変異を有する非小細胞肺癌全体の病態を理解するために極めて重要であると言える。

よって本論文は博士(医学)の学位論文として合格と認める。